

ČESKOSLOVENSKÁ  
SOCIALISTICKÁ  
REPUBLIKA  
( 19 )



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

254868

(11)

(B1)

(51) Int. Cl.<sup>4</sup>

C 07 K 5/12

(22) Přihlášeno 11 06 85

(21) PV 4176-85

(40) Zveřejněno 11 06 87

(45) Vydáno 15 09 88

(75)

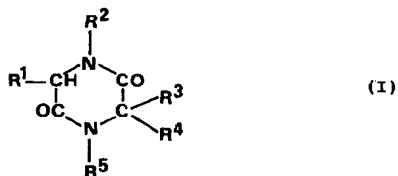
Autor vynálezu

VANŽURA JIŘÍ RNDr. CSc., HRADEC KRÁLOVÉ, KASAFÍREK EVŽEN ing. CSc.,  
KŘEPELKA JIŘÍ ing. CSc., KREJČÍ IVAN RNDr. PhMr. CSc.,  
DLABAČ ANTONÍN MUDR. CSc., PRAHA

(54) Způsob výroby cyklických dipeptidů

Řešení se týká způsobu výroby cyklických dipeptidů cyklizací lineárních esterů dipeptidů v prostředí organického rozpouštědla, s výhodou toluenu, tvořících azeotropní směs, postupným oddestilováním těkavých podílů. Cyklizace je katalyzována alkankarboxylovou kyselinou, s výhodou kyselinou octovou.

Vynález se týká způsobu výroby cyklických dipeptidů obecného vzorce I



ve kterém značí

- $R^1$  atom vodíku, alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, karbamoylalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, aminoalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, benzyl nebo fenyl,
- $R^2$  atom vodíku, alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, přičemž  $R^1$  a  $R^2$  spolu popřípadě spojené tvoří alkylenový řetězec  $-(CH_2)_n-$ , kde  $n = 2$  až  $4$ ,
- $R^3$  alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, aminoalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, fenyl nebo benzyl,
- $R^4$  atom vodíku, přičemž  $R^3$  a  $R^4$  popřípadě spolu spojené tvoří tří až šestičlenný spirocyklus, popřípadě substituovaný alkylem s 1 až 5 atomy uhlíku,
- $R^5$  atom vodíku nebo alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku.

Deriváty cyklo-dipeptidů obecného vzorce I (2,5-piperazindiony) jsou významně biologicky aktivní látky, použitelné v humánní i veterinární medicíně (J. Vanžura se sp., Proc. VIIIth Int. Symp. Med. Chem., Uppsala 1984 (R. Dahlbom, J. L. G. Nilsson, Eds.), Swed. Pharm. Press. Stockholm 1985, Vol. 2, pp. 461-463; J. Vanžura se sp. tamtéž. Vol. 1, pp. 245-247; čs. autorské osvědčení č. 210 383; čs. autorské osvědčení 231 227).

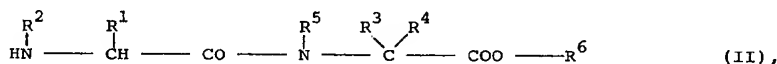
Estery dipeptidů jsou relativně reaktivní sloučeniny, které v některých případech cyklizují na stabilní cyklo-dipeptidy (2,5-piperazindiony). Silnou tendenci k cyklizaci, často probíhající i samovolně, jeví dipeptidy obsahující jako C-koncovou aminokyselinu prolin. Naproti tomu jsou známy estery dipeptidů, cyklizující mimořádně obtížně i při použití cílené cyklizační reakce, např. Pro-Ile-OMe, nebo jiné estery lineárních dipeptidů stericky stíněné na N-konci řetězce.

Při cyklizaci esterů lineárních dipeptidů za katalýzy bezvodým amoniakem v methanolu (E. Fischer, Ber. 39, 2 893 /1906/) může docházet k částečné racemizaci i po modifikaci (K. Bláha, Coll. Czech. Chem. Commun. 34, 4 001 /1969/). Stejně nevýhodná je i cyklizace dipeptidů v prostředí fenolu při teplotě 140 až 150 °C (K. D. Kopple, H. G. Ghazarian, J. Org. Chem. 33, 862 /1968/) nebo v beta-naftolu při teplotě 135 až 140 °C (N. Lichtenstein, J. Am. Chem. Soc. 60, 560 /1938/), které dávají výtěžky v rozsahu 20 až 60 % teorie, přičemž získání čistého produktu je technologicky obtížné. Lepší výsledky poskytuje zahřívání formiátů methylesterů lineárních dipeptidů ve směsi 2-butanolu s toluenem (D. E. Nitecki se sp., J. Org. Chem. 33, 864 /1968/), nebo jejich acetátů v refluxujícím butanolu za katalýzy octové (K. Suzuki se sp., Chem. Pharm. Bull. 29, 233 /1981/). Výtěžky u běžných cyklo-dipeptidů jsou udávány v rozmezí 50 až 90 %.

Z technologického hlediska je nevýhodné zahřívání na teplotu 120 až 130 °C po dobu nejméně 2 až 3 hod., stejně jako použití drahého 2-butanolu, v němž je většina vznikajících cyklo-dipeptidů dobře rozpustná, takže je nutno matečné louhy zahušťovat, popřípadě převádět do jiného rozpouštědla. Přehled cyklizačních metod obsahuje souhrn P. G. Sammes, In. Fortschritte der Chemie Organischer Naturstoffe, str. 51 až 118, Springer-Verlag, Wien 1975.

Všechny výše uvedené cyklizace jsou časově náročné a izolace produktů obtížná, často dochází k racemizaci. Při použití jakékoliv cyklizační metody jsou výtěžky cyklo-dipeptidů a reakční doba velmi závislé na sterickém stínění karboxylové skupiny na C-konci a dusíku na N-konci dipeptidu.

Uvedené nevýhody odstraňuje způsob výroby derivátů obecného vzorce I, ve kterém substituenty  $R^1$  až  $R^5$  mají výše uvedený význam, cyklizací lineárního esteru dipeptidů obecného vzorce II



ve kterém  $R^1$  až  $R^5$  značí totéž co ve vzorci I a  $R^6$  značí methyl nebo ethyl, v prostředí netečného organického rozpouštědla, např. typu aromatického uhlovodíku, zejména toluenu, za kyselých katalýz, při teplotě varu reakční směsi, podle vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se lineární ester dipeptidu obecného vzorce II ve hmotnostním množství 1 mol cyklizuje v prostředí objemového deseti- až padesátinásobného přebytku netečného organického rozpouštědla, schopného tvořit ternární azeotropní směs, s výhodou toluenu, v přítomnosti kyselého katalyzátoru typu alkankarboxylové kyseliny s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou kyseliny octové za oddestilování 85 až 95 % obj. těkavých podílů, načež se z odparku izoluje žádaný produkt.

Způsob podle vynálezu je časově i výrobně nenáročný, ekonomicky výhodný a vede k opticky čistým produktům. S použitím organických rozpouštědel tvořících ternární azeotropní směs, výhodně toluenu a za kyselých katalýz, nejlépe opět kyselinou octovou, bez požadavků na bezvodost substrátu a rozpouštědla, vyžadovaných často u jiných způsobů, se dosahuje překvapivě dobrých výsledků.

Při provedení způsobu podle vynálezu se zahřívá výchozí lineární ester dipeptidu obecného vzorce II, rozpuštěný například v toluenu, s přísadou 0,1 až 1,5 mol kyseliny octové jako katalyzátoru, na teplotu, při které rozpouštědlo zvolna oddestilovává, přičemž se v první fázi reakční směs absolutizuje. Cyklizace probíhá v tomto uspořádání i u obtížně cyklizujících esterů lineárních dipeptidů rychlostí u jiných cyklizací nevídanou, přičemž z reakce resultuje produkt ve vysoké čistotě chemické i optické s vysokým výtěžkem. Další předností způsobu podle vynálezu je velmi malá rozpustnost vznikajícího derivátu cyklo-dipeptidu obecného vzorce I v reakčním prostředí, což vede spolu se snižováním objemu reakčního prostředí v průběhu cyklizace ke kvantitativnímu a technologicky snadnému oddělení produktu. Odpadá nutnost izolace produktu z matečných louhů, ve kterých zůstávají rozpuštěny převážně zbytky výchozí látky.

Způsob podle vynálezu poskytuje výtěžky u běžně cyklizujících dipeptidů v rozmezí 85 až 95 % při reakční době 20 až 30 minut. V případě obtížně cyklizujícího L-Pro-L-Ile-OMe, jehož syntéza vycházela z Z-Pro-Ile-OMe, bylo dosaženo výtěžku 47 % opticky čistého cyklo-dipeptidu po 120minutové cyklizaci.

Způsob podle vynálezu je blíže osvětlen, ale nijak omezen následujícími příklady provedení.

P ř í k l a d 1

Cyklo(L-prolyl-L-isoleucyl)

1,1 g (4,54 mmol) L-Pro-L-Ile-OMe rozpuštěného ve 160 ml toluenu obsahujícího 0,6 ml (9 mmol) kyseliny octové bylo zahříváno při vnější teplotě lázně 130 až 140 °C tak, aby v průběhu 120 minut oddestilovalo 150 ml rozpouštědla. Ke zbytku byl přidán petrolether

a vyloučené krystaly byly odsáty. Bylo získáno 0,49 g (51 %) produktu o t.t. 123-127 °C, který po krystalizaci z ethylacetát-petroletheru poskytl 0,45 g (47 %) bezbarvých krystalů o t.t. 126-128 °C,  $[\alpha]_D^{20} = -139,6$  ( $c = 0,2$ ; methanol),  $R_f$  0,86 ( $S_1$ );  $S_1$  = chloroform-methanol-kyselina octová 14:2:1.

Cyklizací L-Pro-L-Ile-OMe postupem (K. Suzuki se sp., Chem. Pharm. Bull. 29, 233 /1981/) byl získán po reakční době 300 minut 28 % výtěžek surového produktu s totožnými vlastnostmi, přičemž výsledky tenkovrstevné chromatografie indikovaly, že reakční směs obsahuje značné množství výchozího substrátu.

#### P ř í k l a d 2

##### Cyklo(D-alanyl-L-leucyl)

3,5 g (10 mmol) Z-D-Ala-L-Leu-OMe bylo 8,7 g 37 % roztoku bromovodíku v kyselině octové převedeno obvyklým způsobem na HBr.D-Ala-L-Leu-OMe, který byl roztokem bezvodého amoniaku v absolutním chloroformu převeden na volný methylester lineárního dipeptidu D-Ala-L-Leu-OMe. Vyloučený bromid amonný byl odfiltrován, filtrát zahuštěn a nekystalický odparek zředěn 180 ml toluenu, obsahujícího 20 mmol kyseliny octové. Z roztoku bylo při vnějším zahřívání asi na 140 °C oddestilováno v průběhu 30 minut 160 ml toluenu. Reakce byla sledována v pěti-minutových intervalech tenkovrstevnou chromatografií.

Zpětné hodnocení ukázalo, že cyklizace byla ukončena mezi 20. a 25. minutou. Bylo získáno 1,6 g (87 %) cyklo(D-Ala-L-Leu) o t.t. 258 až 260 °C (zatavená kapilára) z methanolu po předchozí sublimaci.  $[\alpha]_D^{20} = +28,3$  ( $c = 0,8$ ; methanol). Reakce ve stejném uspořádání s přísadkou 0,9 g (50 mmol) vody proběhla ve stejném čase s výtěžkem 81 %.

Stejným postupem byly připraveny z odpovídajících methylesterů a ethylesterů lineárních dipeptidů obecného vzorce II následující cyklodipeptidy s použitím reakční doby maximálně 50 minut. Jejich přehled je uveden v tabulce. Identita látek byla potvrzena elementární analýzou, teplotou tání, otáčivostí a IČ spektry.

Použité zkratky odpovídají normě IUPAC-IUB (Biochemistry 5, 1 445 (1966); 6 362 (1967); 7, 2 703 (1968), další symboly mají následující význam:

Acb = kyselina 1-aminocyklobutankarboxylová  
Acp = kyselina 1-aminocyklopentankarboxylová  
Ach = kyselina 1-aminocyklohexankarboxylová  
2MeAch = kyselina 1-amino-2-methylcyklohexankarboxylová  
Phg = 2-fenylglycin  
MeAla = N-methyl-L-alanin  
MeLeu = N-methyl-L-leucin

Tabulka připravených cyklodipeptidů

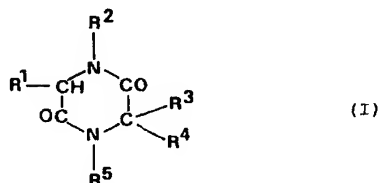
Látka	Výtěžek v %	T.t. ve °C	$[\alpha]_D^{20}$ ve °
c(L-Ala-L-Val)	89	260-262	-29,8 ( $c=1$ ; AcOH)
c(Gly-L-Leu)	91	253-254	+29,0 ( $C=1$ ; voda)
c(Gly-D-Phg)	95	232-233 dec.	- 1,6 ( $c=2,6$ ; DMSO)
c(L-Pro-L-Val)	87	180-190	-161,0 ( $c=0,5$ ; MeOH)
c(L-Pro-L-Leu)	88	157-158	-133,7 ( $c=1$ ; MeOH)
c(L-Ala-L-Leu)	94	257-259	-35,2 ( $c=1,2$ ; MeOH)
c(L-Val-D-Phg)	85	165-166 dec.	-83,5 ( $c=1,2$ ; AcOH)
c(L-Val-L-Ser)	88	232-234 dec.	-83,0 (0,5; MeOH)

pokračování tabulky

Látka	Výtěžek v %	T.t. ve °C	$[\alpha]_D^{20}$ ve °
c(L-Leu-L-Phe)	93	266-267	-15,6 (0,1; voda)
c(L-Ile-Phe)	90	166-168 dec.	+11,9 (1,1; AcOH)
c(L-Asn-L-Arg(NO <sub>2</sub> ))	89	234-236 dec.	-106,8 (0,3; N-Me-2-pyrrolidon)
c(L-Val-L-Lys).HCl	86	255-257 dec.	-53,8 (1,5; voda)
c(L-MeAla-L-MeLeu)	68	52-54	-51,7 (1,0; MeOH)
c(Acb-Gly)	92	277-278	-----
c(Acp-L-Ala)	90	280-281	- 8,3 (1,2; AcOH)
c(Acp-L-Ser)	88	267-269	+24,4 (1,3; AcOH)
c(Acp-D-Leu)	90	277-278	+17,3 (1,0; DMSO)
c(Acp-D-Val)	91	318-320 dec.	- 5,2 (2,0; AcOH)
c(Acp-D-Phe)	86	256-257	-66,0 (0,3; AcOH)
c(Acp-L-Pro)	89	122-123	-122,8 (1,4; AcOH)
c(Ach-Gly)	89	307-308	-----
c(2MeAch-Gly)	88	333-334	-----

## PŘEDMĚT VYNÁLEZU

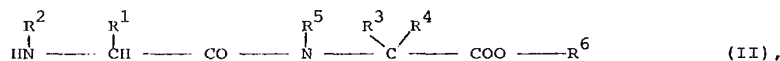
Způsob výroby cyklických dipeptidů obecného vzorce I



ve kterém značí:

- $R^1$  atom vodíku, alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, karbamoylalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, guanidinoalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, aminoalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, benzyl nebo fenyl,
- $R^2$  atom vodíku, alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, přičemž  $R^1$  a  $R^2$  spolu popřípadě spojené tvoří alkylenový řetězec  $-(CH_2)_n-$ , kde  $n = 2$  až 4,
- $R^3$  alkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, hydroxyalkyl s 1 až 3 atomy uhlíku, aminoalkyl s 1 až 5 atomy uhlíku, fenyl nebo benzyl,
- $R^4$  atom vodíku, přičemž  $R^3$  a  $R^4$  popřípadě spolu spojené tvoří tří až šestičlenný spirocyklus, popřípadě substituovaný alkylem s 1 až 5 atomy uhlíku,
- $R^5$  atom vodíku nebo alkyl s 1 až 3 atomy uhlíku,

cyklizací lineárního esteru dipeptidu obecného vzorce II



ve kterém  $R^1$  až  $R^5$  značí totéž co ve vzorci I a  $R^6$  značí methyl nebo ethyl, v prostředí netečného organického rozpouštědla, např. typu aromatického uhlovodíku, zejména toluenu, za kyselé katalýzy, při teplotě varu reakční směsi, vyznačující se tím, že se lineární ester dipeptidu obecného vzorce II ve hmotnostním množství 1 mol cyklizuje v prostředí objemového deseti- až padesátinásobného přebytku netečného organického rozpouštědla, schopného tvořit ternární azeotropní směs, s výhodou toluenu, v přítomnosti kyselé katalyzátoru typu alkanokarboxylové kyseliny s 1 až 3 atomy uhlíku, s výhodou kyseliny octové, za oddestilování 85 až 95 % obj. těkavých podílů, načež se z odparku izoluje žádaný produkt.